TTPA Líquida | TTPA NETO

Kit para determinação do tempo de tromboplastina Parcial Ativado (TTPA) por formação de Coágulo.
Kit para la determinación del Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TTPA) por Formación de Coágulos.
Kit for determining Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) by Clot formation.

Ref: 556
ANVISA 80022230190

FINALIDADE
Reagentes para determinação manual ou automatizada do Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado (TTPA) em plasma citratado, utilizando o ácido elágico como ativador.
Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

ESTABILIDADE
Conservar entre 2 a 8 ºC.
Não congelar ou expor o produto a temperaturas elevadas.
Estabilidade em uso: O reagente deve permanecer aberto e fora da temperatura de armazenamento somente o tempo necessário para se obter a alíquota para o teste. A exposição prolongada do reagente ao ar atmosférico pode comprometer o seu desempenho.
Condições de armazenamento após abertura: após abertos, os reagentes são estáveis por 75 dias, quando armazenados entre 2- 8 ºC e desde que se evite contaminações de natureza química e microbiana.
Condições de armazenamento e estabilidade das soluções de trabalho: quando conservadas entre 2 a 8 ºC, são estáveis até a data de validade impressa no rótulo.

PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO
O teste de Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado (TTPA) é baseado na ativação do mecanismo intrínseco da coagulação sanguínea através da adição de um substituto plaquetário (cefalina) e de cálcio ao plasma a ser analisado.
O teste é realizado adicionando o reagente de cefalina contendo um ativador plasmático e fosfolípides ao plasma em teste. Os fosfolípides agem como substituto de plaquetas. A mistura é incubada por 3 a 5 minutos a 37 ºC para ativação ótima. Adiciona-se à mistura incubada uma solução de cloreto de cálcio para ocorrer a recalcificação e a formação do coágulo é cronometrada.
O kit de TTPA Líquida pode ser usado também nas determinações dos Fatores VIII, IX, XI e XII.

QUALIFICAÇÕES DO MÉTODO
- O teste utiliza extrato de cérebro de coelho fornecendo plaquetas substitutas. O ácido elágico age como ativador fornecendo uma superfície carregada altamente negativa para causar uma ativação ótima do contato de ativação dos fatores de coagulação.
- A metodologia emprega reagentes prontos para uso e permite obter resultados precisos e exatos se for executada conforme descrita nestas instruções de uso.

DESCRIÇÃO DO PRODUTO, ACESSÓRIOS E LIMITAÇÕES DE USO
1. **Cefalina -** Conservar entre 2-8 ºC. Contém ácido elágico <15 µmol/L, cérebro de coelho desidratado <0,20%, fenol <0,4%, cloreto de sódio <145,5 mmol/L. Pronto para uso.

2. **Cloreto de Cálcio -** Conservar entre 2- 8 ºC. Contém cloreto de cálcio 25 mmol/L e tiazolinonas 0,15%.

Material necessário e não fornecido:
- Tubos e pipetas;
- Banho-maria;
- Cronômetro.

COLETA, MANUSEIO, PREPARO E PRESERVAÇÃO DAS AMOSTRAS
Plasma colhido em citrato de sódio 3,2% (109 mmol/L). Usar a proporção de 9 partes de sangue para 1 parte de citrato ou 1 gota de Citrato (Gold Analisa REF. 345) para 3 mL de sangue. As amostras devem ser armazenadas entre 2 e 24°C por até 4 horas após a coleta.

Técnica para obtenção da amostra biológica
1. Obter o sangue por punção venosa e evitar garroteamento prolongado, hemólise, formação de bolhas e aspiração de líquido tissular (fator III). A agulha deve penetrar diretamente na veia e na primeira tentativa (punção venosa "atraumática"). O sangue deve fluir livremente sem que seja necessário aplicar demasiada força ao êmbolo. Não realizar o teste em amostra cuja punção for difícil (punção venosa traumática).
2. Coletar a amostra em seringa de plástico e centrifugar também em tubos de plástico. O uso de material de vidro não siliconizado ativa os fatores da coagulação e reduz falsamente o tempo do teste. Após remover a agulha, utilizar a porção central da amostra da seringa. Utilizar as outras porções para outros testes
3. No caso de coleta à vácuo, usar tubo de plástico ou vidro siliconizado. Caso a coleta seja somente para testes de coagulação, coletar duas amostras. A primeira em tubo sem anticoagulante ou em tubo contendo citrato (tampa azul), que deve ser desprezada. A segunda amostra coletada em tubo contendo citrato (tampa azul) será utilizada para a realização dos testes. Em caso de coleta múltipla, a amostra para teste de coagulação deverá ser obtida após a coleta de amostra em tubo sem anticoagulante e antes da coleta no tubo contendo EDTA.
4. Misturar 9 partes de sangue com 1 parte de citrato ou 3 mL de sangue com 1 gota de Citrato (Gold Analisa REF. 345). Homogeneizar 3 ou 4 vezes por inversão suave. Não utilizar oxalato, pois o fator V é sensível a este anticoagulante.
5. Centrifugar até 1 hora após a coleta a 3000 rpm ou 1500 g durante 15 minutos. Não é necessário remover o plasma do tubo. Manter o tubo tampado até a execução do teste para prevenir alterações do pH da amostra, que pode interferir no resultado.
6. Manter as amostras entre 2 e 24 ºC e realizar o teste até 4 horas após a coleta. Caso exista possibilidade de congelamento rápido, o plasma pode ser congelado a -20 ºC por 2 semanas ou -70 ºC por seis meses. Sugerimos congelar o plasma em alíquotas de 0,5 mL. As amostras devem ser descongeladas rapidamente a 37 ºC e testadas imediatamente.
7. A presença de coágulos implica na recusa da amostra.

NOTA
Recomendamos que a coleta, preparação, armazenamento e descarte das amostras biológicas sejam realizadas seguindo as recomendações das Boas Práticas em Laboratórios Clínicos.
Enfatizamos que os erros provenientes da amostra podem ser muito maiores do que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

TRATAMENTO OU MANUSEIO ANTES DE ESTAREM PRONTOS PARA USO
Para este produto não é necessário nenhum tipo de instalação, reconstituição, calibração, etc.

CONTROLE DA QUALIDADE
O laboratório clínico deve manter um Programa de Garantia da Qualidade para assegurar que todos os procedimentos laboratoriais sejam realizados de acordo com as Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.
Para controle e verificação do desempenho do kit podem ser utilizadas amostras controle com valores estabelecidos pelos fabricantes.
É importante que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores médios e os respectivos limites de variação.

PROCEDIMENTO DO TESTE
Notas Importantes
1. Usar ponteiras limpas (uma para cada teste).
2. Não deixar os reagentes na temperatura ambiente.
3. Retirar da geladeira somente o volume necessário para os testes.

Técnica de Análise
1. Realizar o teste em tubos de vidro rigorosamente limpos.
2. A temperatura do banho-maria deve estar entre 36 e 38 ºC.
3. Testar as amostras testes e de referência em duplicata.
4. Pré-aquecer o Cloreto de Cálcio (2) a 37 ºC.
5. Seguir o esquema abaixo:

Tubos pré-aquecidos	Teste
Plasma a ser analisado	100 µL

Incubar os tubos por, no mínimo, 1 minuto a 10 minutos (máximo).

Cefalina (1)	100 µL

Homogeneizar suavemente. Incubar os tubos a 37 ºC por 3 a 5 minutos. Padronizar o mesmo tempo de incubação para todas as amostras.

Cloreto de Cálcio (2) pré-aquecido	100 µL

6. Acionar o cronômetro.
7. Misturar suavemente.
8. Manter no banho-maria por 15 a 20 segundos.
9. Remover o tubo, incliná-lo periodicamente e observar a formação de coágulo. Travar imediatamente o cronômetro e anotar o tempo.

Ver item Automação.

Cálculos e Resultados
O resultado é expresso em segundos.
Calcular a média do tempo da determinação de TTPA das duplicatas para cada plasma analisado.

AUTOMAÇÃO
O teste pode ser realizado utilizando equipamentos automáticos e semi-automáticos. Observar as instruções dadas pelo fabricante do aparelho.

INTERFERENTES OU LIMITAÇÕES DO TESTE
1. Analíticas: icterícia, lipemia e hemólise podem modificar os resultados de modo imprevisível.
2. Pré-analíticas: o TTPA pode estar aumentado com o uso de AAS, aztreonam, ofloxacino, metronidazol e fenitoína. O TTPA pode estar diminuído com o uso de anti-histamínicos, digitálicos, contraceptivos orais, tetraciclina e estrógenos conjugados.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO
Repetitividade
A imprecisão intra-ensaio foi calculada com 10 determinações, utilizando 2 amostras com valores de 25,7 e 46,1 segundos.
As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 3,26 e 0,88%, respectivamente.

Reprodutibilidade
A imprecisão inter-ensaio foi calculada com 20 determinações, utilizando 2 amostras com valores de 26,6 e 52,2 segundos.
As médias dos coeficientes de variação obtidas foram de 1,15 e 1,02%, respectivamente.

Comparação de Métodos
O produto foi comparado com outro método similar disponível no mercado. Foram utilizadas para a comparação 40 amostras de plasma. Os resultados foram avaliados por modelos estatísticos e a equação de regressão linear obtida foi: Y = 1,128x - 5,43 com r = 0,957.

Sensibilidade a heparina
Este procedimento é útil para monitorar terapias com heparina. Deve-se construir uma curva de sensibilidade adicionando-se quantidades conhecidas de heparina a um pool de plasmas normais. Determinam-se as dosagens dos tempos das diluições, plotando em um gráfico os tempos e as concentrações. Cada laboratório deve estabelecer sua própria curva de calibração.
Relação entre concentração de heparina e o tempo em segundos obtido com o reagente TTPA Líquida e um coagulômetro foto-ótico.

Concentração de heparina (unidade/mL)	TTPA (segundos)
0,0	26,2
0,1	34,3
0,2	42,5
0,4	75,7
0,6	138,9

RISCOS RESIDUAIS IDENTIFICADOS
A gestão de riscos do produto é conduzida de maneira preventiva conforme estabelecido pela ISO 14971, garantindo que as ações implementadas sejam suficientemente eficazes para mitigar os riscos residuais. Todos os riscos identificados são tratados, eliminados e/ou controlados de forma rigorosa.

INTERVALO DE REFERÊNCIA
Os intervalos devem ser usados como orientação. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios intervalos de referência.

Idade	Intervalo (segundos)
2 meses	26,3 - 46,9
5 meses	26,1 - 45,9
Criança a partir de 6 meses e adultos	26,7 - 37,6

DESCARTE DO PRODUTO, ACESSÓRIOS E CONSUMÍVEIS
- O reagente contém azida de sódio que pode reagir com cobre e chumbo dos encanamentos formando sais explosivos.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.

INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES
Nº do lote e data de validade: Vide Rótulos do Produto
Fabricante legal: Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ:03.142.794/0001-16
AFE Nº 800222-3

Endereço: Rua Carmelita Toledo, 240 - Eymard - CEP: 31.910-570 - Belo Horizonte - MG.
Regularizado por: Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16
AFE Nº 800222-3
Farm. Resp. Isabela Fernandes dos Santos - CRF-MG 16773
Home page: www.goldanalisa.com.br
E-mail: assessoria@goldanalisa.com.br
Setor de Apoio ao Cliente (SAC): 0800 703 1888

Caso tenha interesse em obter, sem custo adicional, esta instrução de uso em formato impresso, basta realizar a solicitação através do e-mail assessoria@goldanalisa.com.br ou pelo telefone/whatsapp (31) 9577-2511.

Observe a correlação da versão da instrução de uso indicada no rótulo do produto adquirido.

Analisa é marca registrada da Gold Analisa Diagnóstica Ltda.

Revisão: 05/2025

META
Reactivos para la determinación manual o automatizada del Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TTPA) en plasma citratado, utilizando ácido elágico como activador.
Sólo para uso diagnóstico in vitro.

ESTABILIDAD
Conservar entre 2 y 8 ºC.
No congelar ni exponer el producto a altas temperaturas.
Estabilidad en uso: El reactivo debe permanecer abierto y fuera de la temperatura de almacenamiento solo el tiempo necesario para obtener la alícuota para la prueba. La exposición prolongada del reactivo al aire atmosférico puede comprometer su rendimiento.
Condiciones de almacenamiento después de la apertura: después de la apertura, los reactivos son estables durante 75 días si se almacenan entre 2-8 ºC y siempre que se evite la contaminación química y microbiana.
Condiciones de almacenamiento y estabilidad de las soluciones de trabajo: almacenadas entre 2 y 8 ºC son estables hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta.

PRINCIPIO DE FUNCIONAMIENTO
La prueba del Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TTPA) se basa en la activación del mecanismo intrínseco de la coagulación sanguínea mediante la adición de un sustituto de plaquetas (cefalina) y calcio al plasma a analizar.
La prueba se realiza añadiendo al plasma analizado un reactivo de cefalina que contiene un activador plasmático y fosfolípidos. Los fosfolípidos actúan como sustituto de las plaquetas. La mezcla se incuba durante 3 a 5 minutos a 37°C para una activación óptima. Se añade una solución de cloruro de calcio a la mezcla incubada para recalcificarla y se cronometra la formación del coágulo.
El kit Liquid APTT también se puede utilizar para determinar los factores VIII, IX, XI y XII.

CALIFICACIONES DEL MÉTODO
- La prueba utiliza extracto de cerebro de conejo para proporcionar plaquetas de reemplazo. El ácido elágico actúa como activador proporcionando una superficie altamente cargada negativamente para provocar una activación óptima del contacto de activación del factor de coagulación.
- La metodología emplea reactivos listos para usar y permite obtener resultados precisos y exactos si se lleva a cabo como se describe en estas instrucciones de uso.

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO, ACCESORIOS Y LIMITACIONES DE USO
1. **Cefalina -** Conservar a 2-8 ºC. Contiene ácido elágico <15 µmol/L, cerebro de conejo deshidratado <0,20%, fenol <0,4%, cloruro de sodio <145,5 mmol/L. Listo para usar.

2. **Cloruro de Calcio** - Conservar a 2-8 ºC. Contiene 25 mmol/L de cloruro de calcio y 0,15% de tiazolinonas.

Material requerido no proporcionado:
- Tubos y pipetas;
- Baño maria;
- Cronógrafo.

RECOGIDA, MANIPULACIÓN, PREPARACIÓN Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS
Plasma recogido en citrato de sodio al 3,2 % (109 mmol/l). Utilizar la proporción de 9 partes de sangre por 1 parte de citrato o 1 gota de Citrato (Gold Analisa REF. 345) por 3 mL de sangre. Las muestras deben almacenarse entre 2 y 24 °C hasta 4 horas después de su recolección.

Técnica de obtención de la muestra biológica
1. Obtener sangre mediante venopunción y evitar torniquete prolongado, hemólisis, formación de ampollas y aspiración de líquido tisular (factor III). La aguja debe penetrar directamente en la vena y en el primer intento (venopunción "atraumática"). La sangre debe fluir libremente sin tener que aplicar demasiada fuerza al émbolo. No realice la prueba en una muestra que sea difícil de puncionar (venopunción traumática).
2. Recoger la muestra en una jeringa de plástico y también centrifugarla en tubos de plástico. El uso de material de vidrio sin silicona activa los factores de coagulación y reduce falsamente el tiempo de la prueba. Después de retirar la aguja, utilice la parte central de la muestra de la jeringa. Utilice las otras porciones para otras pruebas.
3. En el caso de recogida al vacío, utilizar un tubo de plástico o vidrio siliconado. Si la recolección es solo para pruebas de coagulación, recolectar dos muestras. El primero en un tubo sin anticoagulante o en un tubo que contiene citrato (tapón azul), que debe ser desechado. Para la realización de las pruebas se utilizará la segunda muestra recogida en un tubo que contiene citrato (tapón azul). En caso de recogida múltiple, la muestra para la prueba de coagulación debe obtenerse después de recoger la muestra en un tubo sin anticoagulante y antes de recogerla en el tubo que contiene EDTA.
4. Mezclar 9 partes de sangre con 1 parte de citrato o 3 mL de sangre con 1 gota de citrato (Gold Analisa REF. 345). Homogeneizar 3 o 4 veces mediante inversión suave. No utilice oxalato, ya que el factor V es sensible a este anticoagulante.
5. Centrifugar hasta 1 hora después de la recolección a 3000 rpm o 1500 g durante 15 minutos. No es necesario retirar el plasma del tubo. Mantenga el tubo tapado hasta realizar la prueba para evitar cambios en el pH de la muestra, que podrían interferir con el resultado.
6. Mantener las muestras entre 2 y 24 ºC y realizar la prueba dentro de las 4 horas posteriores a su recolección. Si es posible una congelación rápida, el plasma se puede congelar a -20 ºC durante 2 semanas o a -70 ºC durante seis meses. Sugerimos congelar el plasma en alícuotas de 0,5 ml. Las muestras deben descongelarse rápidamente a 37°C y analizarse inmediatamente.
7. La presencia de coágulos implica rechazo de la muestra.

NOTA
Recomendamos que la recolección, preparación, almacenamiento y disposición de muestras biológicas se realice siguiendo las recomendaciones de Buenas Prácticas en Laboratorios Clínicos.
Destacamos que los errores que surgen de la muestra pueden ser mucho mayores que los errores que ocurren durante el procedimiento analítico.

TRATAMIENTO O MANIPULACIÓN ANTES DE QUE ESTÉN LISTOS PARA SU USO
Este producto no requiere instalación, reconstitución, calibración, etc.

CONTROL DE CALIDAD
El laboratorio clínico debe mantener un Programa de Garantía de Calidad para garantizar que todos los procedimientos de laboratorio se realicen de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio Clínico.
Para controlar y verificar el rendimiento del kit se pueden utilizar muestras de control con valores establecidos por los fabricantes.
Es importante que cada laboratorio establezca sus propios valores promedio y respectivos límites de variación.

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA
Notas importantes
1. Utilice puntas limpias (una para cada prueba).
2. No deje los reactivos a temperatura ambiente.
3. Sacar del frigorífico sólo el volumen necesario para la prueba.

Técnica de análisis
1. Realizar la prueba en tubos de vidrio rigurosamente limpios.
2. La temperatura del baño maría debe estar entre 36 y 38 ºC.
3. Pruebe las muestras de prueba y de referencia por duplicado.
4. Precalentar el Cloruro de Calcio (2) a 37 ºC.
5. Siga el esquema a continuación:

Tubos precalentados	Prueba
Plasma a analizar	100 µL

Incubar los tubos durante al menos 1 minuto a 10 minutos (máximo).

Cefalina (1)	100 µL

Homogeneizar suavemente. Incubar los tubos a 37 ºC durante 3 a 5 minutos. Estandarizar el mismo tiempo de incubación para todas las muestras.

Cloruro de calcio (2) precalentado	100 µL

6. Inicie el cronómetro.
7. Mezclar suavemente.
8. Mantener al baño maría de 15 a 20 segundos.
9. Retire el tubo, inclínelo periódicamente y observe la formación de coágulos. Detenga inmediatamente el cronómetro y registre el tiempo.

Ver elemento de automatización.

Cálculos y resultados
El resultado se expresa en segundos.
Calcule el tiempo promedio de determinación de APTT para duplicados de cada plasma analizado.

AUTOMATIZACIÓN
La prueba se puede realizar utilizando equipos automáticos y semiautomáticos. Observe las instrucciones proporcionadas por el fabricante del dispositivo.

INTERFERENCIAS O LIMITACIONES DE LA PRUEBA
1. Analítica: la ictericia, la lipemia y la hemólisis pueden modificar los resultados de forma impredecible.
2. Preanálisis: El TTPA puede aumentar con el uso de EAA, aztreonam, ofloxacina, metronidazol y fenitoína. El TTPA puede reducirse con el uso de antihistamínicos, digitálicos, anticonceptivos orales, tetraciclinas y estrógenos conjugados.

CARACTERÍSTICAS DE PRESENTACIÓN
Repetitividad
La imprecisión intraensayo se calculó con 10 determinaciones, utilizando 2 muestras con valores de 25,7 y 46,1 segundos.
Los coeficientes de variación promedio obtenidos fueron de 3,26 y 0,88%, respectivamente.

Reproducibilidad
La imprecisión interensayo se calculó con 20 determinaciones, utilizando 2 muestras con valores de 26,6 y 52,2 segundos.

Los coeficientes de variación promedio obtenidos fueron de 1,15 y 1,02%, respectivamente.

Comparación de métodos
El producto se comparó con otro método similar disponible en el mercado. Se utilizaron 40 muestras de plasma para comparación. Los resultados fueron evaluados mediante modelos estadísticos y la ecuación de regresión lineal obtenida fue: Y = 1,128x - 5,43 con r = 0,957.

Sensibilidad a la heparina
Este procedimiento es útil para controlar las terapias con heparina. Se debe construir una curva de sensibilidad añadiendo cantidades conocidas de heparina a una mezcla de plasma normal. Las dosis y los tiempos de dilución se determinan trazando los tiempos y las concentraciones en un gráfico. Cada laboratorio debe establecer su propia curva de calibración.
Relación entre la concentración de heparina y el tiempo en segundos obtenida con el reactivo APTT líquido y un coagulómetro fotoóptico.

Concentración de heparina (unidades/mL)	TTPA (segundos)
0,0	26,2
0,1	34,3
0,2	42,5
0,4	75,7
0,6	138,9

RIESGOS RESIDUALES IDENTIFICADOS
La gestión de riesgos del producto se realiza de forma preventiva según lo establecido en la norma ISO 14971, asegurando que las acciones implementadas sean lo suficientemente efectivas para mitigar los riesgos residuales. Todos los riesgos identificados son tratados, eliminados y/o controlados rigurosamente.

INTERVALO DE REFERENCIA
Los rangos deben usarse como guía. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios rangos de referenci

Edade	Intervalo (segundos)
2 meses	26,3 - 46,9
5 meses	26,1 - 45,9
Niños a partir de 6 meses y adultos	26,7 - 37,6

ELIMINACIÓN DEL PRODUCTO, ACCESORIOS Y CONSUMIBLES
- El reactivo contiene azida de sodio que puede reaccionar con el cobre y el plomo en las tuberías para formar sales explosivas.
- Disponer de reactivos y muestras de acuerdo con las resoluciones regulatorias locales, estatales y federales para la preservación del medio ambiente.

INFORMACIONES COMPLEMENTARIAS
Número de lote y fecha de vencimiento: consulte las etiquetas del producto
Fabricante legal: Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16
AFE Nº 800222-3

Dirección: Rua Carmelita Toledo, 240 - Eymard - CEP: 31.910-570 - Belo Horizonte - MG.
Regulado por: Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16
AFE N° 800222-3
Farm. Responder. Isabela Fernandes dos Santos - CRF-MG 16773
Página de inicio: www.goldanalisa.com.br
Correo electrónico: asesoria@goldanalisa.com.br
Sector Atención al Cliente (SAC): 0800 703 1888
Si está interesado en obtener, sin costo adicional, este instructivo de uso en formato impreso, simplemente realice la solicitud por correo electrónico asesoria@goldanalisa.com.br o por teléfono/Whatsapp (31) 9577-2511.

Observe la correlación de la versión de las instrucciones de uso indicadas en la etiqueta del producto adquirido.

Analisa é marca registrada da Gold Analisa Diagnóstica Ltda.

Revisão: 05/2025

TTPA Líquida | TTPA NETO

Kit para determinação do tempo de tromboplastina Parcial Ativado (TTPA) por formação de Coágulo.
Kit para la determinación del Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TTPA) por Formación de Coágulos.
Kit for determining Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) by Clot formation.

Ref: 556
ANVISA 80022230190

PURPOSE
Reagents for manual or automated determination of Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) in citrated plasma, using ellagic acid as an activator.
For in vitro diagnostic use only.

STABILITY
Store at 2 to 8°C.
Do not freeze or expose the product to high temperatures.
In-use stability: The reagent should remain open and out of storage temperature only for the time necessary to obtain the aliquot for the test. Prolonged exposure of the reagent to atmospheric air may compromise its performance.
Storage conditions after opening: Once opened, the reagents are stable for 75 days when stored at 2-8°C and provided that chemical and microbial contamination is avoided.
Storage conditions and stability of working solutions: when stored at 2 to 8°C, they are stable until the expiration date printed on the label.

WORKING PRINCIPLE
The Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) test is based on the activation of the intrinsic mechanism of blood coagulation through the addition of a platelet substitute (cephalin) and calcium to the plasma to be analyzed.
The test is performed by adding the cephalin reagent containing a plasma activator and phospholipids to the plasma under test. The phospholipids act as a platelet substitute. The mixture is incubated for 3 to 5 minutes at 37 ºC for optimal activation. A calcium chloride solution is added to the incubated mixture to occur recalcification and the formation of the clot is timed.
The Liquid APTT kit can also be used to determine Factors VIII, IX, XI and XII.

METHOD QUALIFICATIONS
The test uses rabbit brain extract to provide platelet substitutes. Ellagic acid acts as an activator by providing a highly negatively charged surface to cause optimal activation of the coagulation factor activation contact.
The methodology employs ready-to-use reagents and allows for precise and accurate results if performed as described in these instructions for use.

PRODUCT DESCRIPTION, ACCESSORIES AND USE LIMITATIONS
Cephaline - Store between 2-8 ºC. Contains ellagic acid <15 µmol/L, dehydrated rabbit brain <0.20%, phenol <0.4%, sodium chloride <145.5 mmol/L. Ready to use.

Calcium Chloride - Store between 2-8 ºC. Contains calcium chloride 25 mmol/L and thiazolinones 0.15%.

Required material not provided:
- Tubes and pipettes;
- Water bath;
- Timer.

SAMPLE COLLECTION, HANDLING, PREPARATION AND PRESERVATION
Plasma collected in 3.2% sodium citrate (109 mmol/L). Use the ratio of 9 parts blood to 1 part citrate or 1 drop of Citrate (Gold Analisa REF. 345) to 3 mL of blood. Samples should be stored between 2 and 24°C for up to 4 hours after collection.

Technique for obtaining the biological sample
1. Obtain blood by venipuncture and avoid prolonged tourniquet, hemolysis, bubble formation and aspiration of tissue fluid (factor III). The needle should penetrate the vein directly and on the first attempt ("atraumatic" venipuncture). The blood should flow freely without the need to apply too much force to the plunger. Do not perform the test on a sample that is difficult to puncture (traumatic venipuncture).

2.Collect the sample in a plastic syringe and centrifuge it in plastic tubes. Using non-siliconized glass material activates the coagulation factors and falsely reduces the test time. After removing the needle, use the central portion of the sample from the syringe. Use the other portions for other tests.

3.In the case of vacuum collection, use a plastic or siliconized glass tube. If the collection is only for coagulation tests, collect two samples. The first in a tube without anticoagulant or in a tube containing citrate (blue cap), which should be discarded. The second sample collected in a tube containing citrate (blue cap) will be used to perform the tests. In the case of multiple collections, the sample for the coagulation test should be obtained after collecting the sample in a tube without anticoagulant and before collecting it in the tube containing EDTA.

4.Mix 9 parts of blood with 1 part of citrate or 3 mL of blood with 1 drop of Citrate (Gold Analisa REF. 345). Homogenize 3 or 4 times by gentle inversion. Do not use oxalate, as factor V is sensitive to this anticoagulant.

5.Centrifuge within 1 hour after collection at 3000 rpm or 1500 g for 15 minutes. It is not necessary to remove the plasma from the tube. Keep the tube capped until the test is performed to prevent changes in the pH of the sample, which may interfere with the result.

6.Store samples at 2 to 24°C and perform the test within 4 hours of collection. If rapid freezing is possible, plasma can be frozen at -20°C for 2 weeks or -70°C for six months. We suggest freezing plasma in 0.5 mL aliquots. Samples should be thawed rapidly at 37°C and tested immediately.

7.The presence of clots implies rejection of the sample.

NOTE
We recommend that the collection, preparation, storage and disposal of biological samples be carried out in accordance with the recommendations of Good Practices in Clinical Laboratories.
We emphasize that errors resulting from the sample may be much greater than errors occurring during the analytical procedure.

TREATMENT OR HANDLING BEFORE BEING READY FOR USE
This product does not require any type of installation, reconstitution, calibration, etc.

QUALITY CONTROL
The clinical laboratory must maintain a Quality Assurance Program to ensure that all laboratory procedures are performed in accordance with Good Clinical Laboratory Practices.
To control and verify the performance of the kit, control samples with values established by the manufacturers can be used.
It is important that each laboratory establishes its own average values and respective variation limits.

TEST PROCEDURE
Important Notes
1. Use clean tips (one for each test).
2. Do not leave the reagents at room temperature.
3. Remove from the refrigerator only the volume necessary for the tests.

Analysis Technique
1. Perform the test in rigorously clean glass tubes.
2. The water bath temperature should be between 36 and 38 ºC.
3. Test the test and reference samples in duplicate.
4. Preheat the Calcium Chloride (2) to 37 ºC.
5. Follow the diagram below:

Preheated tubes	Test
Plasma to be analyzed	100 µL

Incubate the tubes for at least 1 minute to 10 minutes (maximum).

Cephalin(1)	100 µL

Homogenize gently. Incubate the tubes at 37 ºC for 3 to 5 minutes. Standardize the same incubation time for all samples.

Preheated Calcium Chloride (2)	100 µL

6. Start the timer.
7. Mix gently.
8. Keep in the water bath for 15 to 20 seconds.
9. Remove the tube, tilt it periodically and observe the formation of a clot.
Immediately stop the stopwatch and record the time.
See Automation item.

Calculations and Results
The result is expressed in seconds.
Calculate the average time for APTT determination of the duplicates for each plasma analyzed.

AUTOMATION
The test can be performed using automatic and semi-automatic equipment. Follow the instructions given by the equipment manufacturer.

INTERFERENCES OR LIMITATIONS OF THE TEST
1. Analytical: jaundice, lipemia and hemolysis may modify the results in an unpredictable manner.
2. Pre-analytical: the APTT may be increased with the use of ASA, aztreonam, ofloxacin, metronidazole and phenytoin. The APTT may be decreased with the use of antihistamines, digitalis, oral contraceptives, tetracycline and conjugated estrogens.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS
Repeatability
Intra-assay imprecision was calculated with 10 determinations, using 2 samples with values of 25.7 and 46.1 seconds.
The average coefficients of variation obtained were 3.26 and 0.88%, respectively.

Reproducibility
Inter-assay imprecision was calculated with 20 determinations, using 2 samples with values of 26.6 and 52.2 seconds.
The average coefficients of variation obtained were 1.15 and 1.02%, respectively.

Comparison of Methods
The product was compared with another similar method available on the market. Forty plasma samples were used for comparison. The results were evaluated by statistical models and the linear regression equation obtained was: Y = 1.128x - 5.43 with r = 0.957.

Heparin sensitivity
This procedure is useful for monitoring heparin therapies. A sensitivity curve should be constructed by adding known quantities of heparin to a pool of normal plasma. The dosages of the dilution times are determined, plotting the times and concentrations on a graph. Each laboratory should establish its own calibration curve.
Relationship between heparin concentration and time in seconds obtained with the TTPA Liquid reagent and a photo-optical coagulometer.

Heparin concentration (unit/mL)	APTT (seconds)
0,0	26,2
0,1	34,3
0,2	42,5
0,4	75,7
0,6	138,9

RESIDUAL RISKS IDENTIFIED
Product risk management is conducted in a preventive manner as established by ISO 14971, ensuring that the actions implemented are sufficiently effective to mitigate residual risks. All identified risks are treated, eliminated and/or controlled in a rigorous manner.

REFERENCE INTERVAL
The ranges should be used as a guide. It is recommended that each laboratory establish its own reference intervals.

Age	Intervalo (segundos)
2 months	26,3 - 46,9
5 months	26,1 - 45,9
Children from 6 months and adults	26,7 - 37,6

DISPOSAL OF PRODUCT, ACCESSORIES AND CONSUMABLES
- The reagent contains sodium azide that can react with copper and lead in pipes to form explosive salts.
- Dispose of reagents and samples in accordance with local, state and federal environmental preservation regulations.

ADDITIONAL INFORMATION
Batch number and expiration date: See Product Labels
Legal Manufacturer: Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16
AFE Nº 800222-3

Address: Rua Carmelita Toledo, 240 - Eymard - CEP: 31.910-570 - Belo Horizonte - MG.
Regulated by: Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16
AFE Nº 800222-3
Farm. Resp. Isabela Fernandes dos Santos - CRF-MG 16773
Home page: www.goldanalisa.com.br
E-mail: assessoria@goldanalisa.com.br
Customer Support Department (SAC): 0800 703 1888

If you are interested in obtaining, at no additional cost, this instruction for use in printed format, simply make the request by email to assessoria@goldanalisa.com.br or by phone/WhatsApp (31) 9577-2511.

Observe the correlation of the version of the instruction for use indicated on the label of the product purchased.

Analisa is a registered trademark of Gold Analisa Diagnóstica Ltda.

Revisão: 05/2025